AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT
FREIBURG I. BR., DIREKTOR: PROF. DR. L. ASCHOFF

ZUR FRAGE NACH DEM EINFLUSS VON INSULIN AUF DIE STRUKTUR DER HYPOPHYSE

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

EINER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

ALBERT-LUDWIGS-UNIVERSITÄT ZU FREIBURG I. BR.

VORGELEGT VON

WILHELMA MUTHMANN

VERLAGSBUCHHANDLUNG JULIUS SPRINGER IN BERLIN. 1932

Dekan: Prof. Dr. *Rehn*

Referent: Prof. Dr. *Büchner*

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Sonderdruck aus „Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin"
Bd. 81, Heft 1/2.

E. G. Eaves teilte 1926 mit, daß sie nach länger fortgesetzten Insulininjektionen in den Hypophysen junger Kaninchen histologische Veränderungen gesehen habe, die auf eine Hyperaktivität des Vorderlappens und des Mittellappens schließen lassen.

Diese Feststellung scheint eine große Reihe physiologischer und pharmakologischer Beobachtungen über Beziehungen der Hypophyse zum Zuckerstoffwechsel morphologisch zu bestätigen. Zahlreiche Autoren (z. B. *Cushing* und Mitarbeiter, in neuerer Zeit besonders *Houssay* und seine Schüler) haben klinisch und experimentell festgestellt, daß Zusammenhänge zwischen Störungen der Hypophyse und solchen des Zuckerstoffwechsels bestehen, und daß — insbesondere bei anormaler Funktion der Hypophyse — Blutzucker und Zuckerausscheidung im Urin durch Hypophysenpräparate beeinflußbar sind. Ferner ist in zahlreichen Tierversuchen erwiesen worden, daß ein Antagonismus zwischen Insulin und Pituitrin besteht, und zwar nicht nur in bezug auf den Kohlehydratstoffwechsel, sondern auch auf andere Wirkungen des Pituitrins; Insulin soll die Pituitrinsekretion erhöhen.

Eaves deutet nun eine Änderung der morphologischen Struktur der Hypophyse als Ausdruck veränderter Funktion (wie schon *Kraus*). In diesem Sinn schließt *Geiling* seine Arbeit über den Antagonismus zwischen Insulin und Hinterlappenextrakt mit einem Hinweis auf die Ergebnisse von *Eaves:* „Sie zeigen auch sehr klar, daß die Hypophyse zur Tätigkeit gereizt wird, wenn man Insulin einspritzt." Ebenso weist *Trendelenburg* bei der Behandlung dieser Frage auf die Ergebnisse von *Eaves* hin.

Es erschien daher wünschenswert, die Resultate von *Eaves* systematisch nachzuprüfen.

Die Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von Herrn Privatdozent Dr. *Büchner* ausgeführt.

Eaves gab 5 jungen Kaninchen — ursprünglich für einen anderen Zweck — 4—5mal die Woche Insulininjektionen, die Dose zwischen 2 und 6 Einheiten variierend. Die Behandlungszeit betrug 8 Tage bis 8 Wochen. Außer einer Erhöhung des Durchschnittsgewichtes fand *Eaves* in den Hypophysen der Insulintiere histologisch „Zeichen eines hyperaktiven Zustandes, verglichen mit den Hypophysen normaler Tiere": im Vorderlappen Vermehrung, Vergrößerung und Konfluenz der Eosinophilen, im Mittellappen Vergrößerung und Verschwommenheit der Zellen.

Auch *Arndt* hat die Frage des Einflusses von Insulin auf die Hypophyse untersucht und dabei, auch nach chronischer Insulininjektion, keine Änderung der Hypophysenstruktur festgestellt. Allerdings wählte *Arndt ausgewachsene* Kaninchen zu seinen Versuchen, *Eaves* dagegen junge Tiere.

Ich habe nun die Versuche von *Eaves* an *2 Serien junger Kaninchen von je 6 und 8 Stück* nachgeprüft.

Es handelte sich durchweg um unausgewachsene Tiere verschiedenen Alters. Serie 1 stammte aus einem Wurf, Serie 2 aus drei verschiedenen. Die Tiere erhielten ihr Futter einmal täglich, morgens kurz nach der Einspritzung, im Winter unmittelbar nach derselben. Das Futter bestand im Sommer aus frischem Gras und Heu (1. Serie), im Winter aus Heu mit Rüben, gelegentlich Hafer (2. Serie).

Verwendet wurde Insulin „*Kahlbaum*", Amp. 5 ccm/100 Einheiten
in Lösung von 1 ccm Insulin + 19,0 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung
oder 0,5 „ „ + 19,5 „ „ „ „

Die Lösung wurde etwa wöchentlich hergestellt und im Eisschrank aufbewahrt. Die Feststellung des Körpergewichtes erfolgte in nüchternem Zustande.

Serie 1 (Gewicht zu Versuchsbeginn 1650—1950 g) bestand aus 4 Versuchs- und 2 Kontrolltieren, es starben 2 Tiere im hypoglykämischen Shock, 2 durch Futterschaden, 2 wurden durch Luftembolie getötet. — Behandlungsdauer 4 bis 35 Tage, Insulindosen anfangs 0,5—2 Einheiten, später 1 Einheit ein um den anderen Tag.

Serie 2 (Gewicht zu Versuchsbeginn 1050—1650 g) bestand aus 5 Versuchs- und 3 Kontrolltieren, von denen die Versuchstiere anfangs Gewichtsabnahme, später wie die Kontrolltiere stetige Zunahme zeigten. 3 Tiere im Shock eingegangen, 5 durch Luftembolie getötet. Behandlungsdauer 17 Tage bis 20 Wochen, Dosen $^1/_4$—1 Einheit einen um den anderen Tag.

Zur *histologischen Technik:* Die Hypophysen wurden mit *Zenker*scher Flüssigkeit fixiert (Sublimatentfernung durch Lugol-Alkohol, teilweise erst am Schnitt) und über Celloidin-Chloroform in Paraffin eingebettet. Sie wurden sämtlich in Serien geschnitten.

Als *Färbung* bewährte sich am besten die gewöhnliche Hämatoxylin-Eosinfärbung. Andere Färbungen *(Kraus, Mallory, Giemsa)* gaben weniger klare Resultate. Gute Bilder erhielt ich mit Eosin-Gram:

Eosin 2—3 Minuten, auswaschen
Differenzieren 50 und 70% Alkohol (nicht zu lange)
Gut wässern
Anilinwasser — Gentianaviolett 1—2 Minuten
Auswaschen, abtrocknen
Lugol $^1/_2$ Minute (nicht länger, da sonst Eosin zu stark verändert wird)
Differenzieren kurz in 96% Alkohol
Differenzieren in 100% Alkohol, bis makroskopisch rötlichblau
Xylol, Balsam.

Ergebnis: Basophile: Kerne stark blau, Neutrophile: Kerne hell, blau granuliert, Protoplasma zartrosa, Eosinophile: Kerne kaum gefärbt, Protoplasma leuchtend rot.

Zur *Kontrolle* wurden die Hypophysen mehrerer nicht mit Insulin behandelter junger Tiere histologisch untersucht.

Bei einigen Tieren wurden Leber, Niere und Herz auf Glykogen untersucht (Färbung nach Best.). Bei den Insulintieren war die Leber (vgl. *Arndt, Wichels* und *Lauber*) glykogenfrei, bei einem normalen positiv.

Zur *Versuchstechnik:* Mehrfach gingen Tiere gleichzeitig oder an aufeinanderfolgenden Tagen ein. Das spricht für die *verschiedene Insulinreaktion der gleichen Kaninchen an verschiedenen Tagen* (Witterung) (*Laqueur* und *de Jongh*). Auf die Variabilität der Insulinreaktion machen *Burn* und *Wiechowski,* auf Zunahme der Empfindlichkeit bei häufigen Injektionen *Arndt* aufmerksam. Diese Tatsachen sind zu berücksichtigen.

Bei dem am längsten behandelten Tier fiel die *starke Entwicklung des Fettpolsters* subcutan und um die Nieren auf.

Die im Shock eingegangenen Insulintiere zeigten sämtlich vor dem Tode die gleichen Erscheinungen: Krämpfe, Kotabgang, Zähneblecken, Hyperventilation, Schweiß, fühlten sich kühl an. Die Totenstarre trat schnell ein (nach *Bauer, Kuhn* und *Wacker* für Insulintod charakteristisch, normal Totenstarre erst nach 4—8 Stunden). Daß ein Tier nicht auf Traubenzucker reagierte, beweist nichts gegen Insulintod, da der Traubenzucker erst spät gegeben wurde.

Die Zeiten zwischen letzter Einspritzung und Tod wurden notiert, um eventuell zwischen aktiver Sekretion oder langsamer struktureller Umgestaltung der Hypophyse unterscheiden zu können.

Das *Resultat der Untersuchungen* war ein *vollkommen negatives.* Das Bild der Vorderlappen glich sich in allen Hypophysen vollständig und entsprach dem Normalbild. Das Bild der Zwischenlappen zeigte individuelle Unterschiede (Cysten- und Spaltbildungen, Kolloid), wie sie auch für die Pars intermedia des Menschen bekannt sind (*Schönig, Rasmussen*). Verschiedenheiten des Sekretionszustandes konnte ich nicht feststellen. Vielmehr fanden sich in allen Zwischenlappen Zellen des verschiedensten Sekretionszustandes bunt nebeneinander. Mehrfach war eine scharfe Abgrenzung zwischen Vorderlappen und Pars intermedia nicht zu erkennen.

Auf Gewichtsbestimmungen der Hypophysen wurde verzichtet, da die Tiere in verschiedenen Altersstufen zur Untersuchung kamen. . *Poos* weist auf die Gewichtsverschiedenheiten der Hypophyse auch bei gleichgroßen und etwa gleichaltrigen Tieren hin.

Zusammenfassung.

Für einen Antagonismus zwischen Insulin und Hypophyse wird in der neuren Literatur wiederholt auf eine Arbeit von *Eaves* hingewiesen, nach der durch längerdauernde Insulininjektionen bei jungen Kaninchen die Struktur der Hypophyse verändert werden soll. Eine Nachprüfung dieser Experimente ergab keine Veränderungen des histologischen Bildes des Hypophyse.

Literaturverzeichnis.

Arndt: Beitr. path. Anat. **79** (1928). — *Aschoff:* Pathologische Anatomie, 7. Aufl., 1928. — *Bauer-Kuhn-Wacker:* Münch. med. Wschr. **71** (1924). — *Burn:* J. of Physiol. **57** (1923). — *Cushing:* The Pituitary Body, Philadelphia 1923. — *Eaves:* J. of Physiol. **62** (1926). — *Eaves* u. *Clark:* J. of Physiol. **62** (1926). — *Geiling, Campbell* u. *Ishikawa:* J. of Pharmacol. **31** (1927). — *Houssay:* Endokrinol. **5** (1929). — Hypophisis e Diabetes, Rev. Asoc. méd. argent. **43** (1930). — *Kraus:* Virchows Arch. **228** (1930); Beitr. path. Anat. **68** (1920). — *Laqueur* u. *de Jongh:* Biochem. Z. **163** (1925). — *Poos:* Klin. Wschr. **6**, 1884 (1927). — *Rasmussen:* Endocrinology **1928**. — *Schoenig:* Frankf. Z. Path. **34** (1926). — *Trendelenburg:* Die Hormone, I. 1930. — *Wichels* u. *Lauber:* Z. klin. Med. **114** (1930). — *Wiechowski:* zit. Klin. Wschr. **3**, 1382 (1924).